云 南 植 物 研 究 1987；9（3）：353—358
Acta Botanica Yunnanica

云南山楂茎尖的离体培养及其无性系快速繁殖

胡虹　黄仕周　段金玉

（中国科学院昆明植物研究所，昆明）

摘要　用云南山楂(*Crataegus scabrifolia* (Franch.) Rehd.)成年树茎尖和实生芽两种不同发育阶段的材料为外殖体，诱导它们休眠芽萌动，丛生芽条并诱导芽条生根。实验结果如下：1.以成年态的云南山楂侧芽为外植体，培养在附加IAA 0.1—0.5 mg/l＋6-BA 1—2 mg/l的MS培养基上可诱导芽的萌发；将芽继代培养在附加0.5—1 mg/l 6-BA 的SH或MS培养基上，40天后芽数增殖4—6倍；将芽条截下置于1/2 MS 培养基上，附加不同浓度的IAA或IBA，可得到50—80％的生根率。2.以实生芽为外殖体，在相同条件下，则20天后芽数增殖便可获4—6倍；98％以上生根。结果表明：云南山楂的幼年态要比成年态易脱分化和再分化。

关键词　云南山楂；幼年态；成年态；无性系快速繁殖

山楂的经济价值和药用价值越来越为人们所重视。已经有人报道过北方山楂（*Cratoegus pinnalifida* Bge）用实生苗组织培养诱导丛苗实现快速繁殖[1，2]。但未见过成年树离体器官诱导丛苗的报道。由于木本植物有幼态与成年态的区别，幼态和成年态的器官在组织培养中的表现很不相同，一般说来成年态的部分要比幼态难于脱分化和再分化[3]。山楂用种子繁殖较困难，实生苗一般也只用作砧木，一些优良单株或品种的繁殖则需要嫁接，如能用成年树的茎尖快速繁殖，则可加速优良品系的繁殖速度。本实验采用的云南山楂*Crataegus scabrifolia*）与北方山楂（*Cratoegus pinnalifida* Beg）是同一属中的两个种，但其主要药用成份却相差无几[4]。1983年底，我们开始进行了山楂成年树茎尖、顶芽和侧芽的离体培养，获得了一些试管苗。与此同时，我们用种子萌发后的实生芽条也作了相同的实验。

材料和方法

山楂茎尖　1.成年树茎尖采用玉溪地区三个农家单株优良品种。1983年8月份采回的枝条冷藏一个月后取出用其芽。1984年3月份采的枝条，直接用其芽，多采用侧芽，因顶芽多是花芽。2.实生芽所用的种子是嵩明县当年采收的种子，经浓硫酸处理后，冷冻沙藏二个月取出使其萌动。

1986-12-11收稿

灭菌　1.成年树茎尖：将枝条先用水冲洗后，按常规灭菌之后将芽从枝条上截下，接种于固体培养基上。2.实生芽：将沙藏过的种子常规灭菌后，置于固体培养基上让其萌动。

培养基：成年树茎尖与实生苗使用完全相同的培养基，使用了三种不同的培养基：

1.诱导芽萌动以MS为基本培养基，蔗糖3％，pH5.8。

2.芽增殖的基本培养基为SH或MS，附加椰乳2－5％或100—200mg/l的水解酪蛋白，蔗糖6％，pH5.8。附加不同浓度的6－BA。

3.芽条生根采用大量元素减半的MS为基本培养基，蔗糖降为2％，附加不同浓度的IAA或IBA。

光照：每天12小时。

温度：25°C±3°C

试验结果

1.芽的诱导　将灭过菌的休眠芽置于MS＋IAA 0.1—0.5 mg/l＋6－BA1—2mg/l的培养基上，一个月后可见芽鳞裂开，小叶抽出。

2.丛芽的诱导　将抽出的小芽条（有三个节）转到附加有IAA和6－BA不同浓度配比的SH培养基上，40天后观察成年树的芽条；20天后观察来源于实生苗的芽条，结果见表1、表2。

表1　IAA和6-BA配比对芽增殖的影响

（接种后40天的统计资料。源于成年树的芽条）

Table 1 The effect of 6-BA with IAA on multiplication of buds (40 days after inoculation, adult shoots)

激素浓度 Hormone conc. (mg/l) IAA	6-BA	供试芽数 tested no. of shoots	形成的丛芽数 Forming no. of tufted shoots	增殖倍数 multi plication times	芽条平均长度 Average length of shoots (cm)	最大叶面积 Area of the maximum leaf (cm²)	愈伤组织鲜重 Fresh weigth of callus (mg/shoot)
0.0			20	1.0	1.0	0.20	0.5
0.2		20	32	1.6	1.5	0.23	10.2
0.5	0		46	2.3	1.8	0.23	18.2
1.0			26	1.3	2.5	0.14	26.7
2.0			29	1.5	2.8	0.12	40.5
	0.2		63	3.2	0.5	0.60	2.1
	0.5		118	5.9	1.5	0.80	2.8
0.0	1.0	20	107	5.4	0.8	0.70	2.3
	2.0		108	5.4	0.5	0.24	2.0
0.2	0.2		36	1.8	1.5	0.60	18.9
0.2	0.5		65	3.3	1.2	0.70	24.1
0.5	1.0	20	94	4.7	0.4	0.12	37.3
0.5	1.5		89	4.5	0.5	0.08	49.5

表 2　IAA和6-BA配比对芽增殖的影响
（接种后20天的统计资料，实生苗）
Table 2　The effect of 6-BA with IAA on multiplication of buds
(20 days after inocultion, seedling shoots)

激素浓度 Hormone conc. (mg/l) IAA	6-BA	供试芽数 Tested no. of buds	形成的丛芽数 Forming number of tufted shoots	增殖倍数 multiplication times	芽条平均长度 Average length of shoots (cm)	最大叶面积 Area of the maximum leaf (cm^2)	愈伤组织鲜重 Fresh weight of callus (mg/plant)
0.0			20	1.0	1.2	0.08	0.1
0.2			22	1.1	2.5	0.06	1.5
0.5	0.0	20	28	1.4	3.1	0.06	5.9
1.0			24	1.2	3.8	0.04	10.2
2.0			24	1.2	4.0	0.03	20.2
	0.2		45	2.3	2.5	0.08	0.5
	0.5		113	5.7	3.5	0.14	0.7
0.0	1.0	20	126	6.3	3.8	0.11	5.1
	2.0		109	5.5	4.1	0.03	5.6
0.2	0.2		59	3.0	3.2	0.07	4.8
0.2	0.5		96	4.8	3.0	0.08	12.1
0.5	1.0	20	110	5.5	2.9	0.04	21.1
0.5	1.5		103	5.2	2.5	0.03	29.0

从表 1 可见：（1）单加IAA，对芽的分化作用不强，但能促进苗的生长，且随着IAA的浓度增高这种促进作用也增强，但当把浓度提高到 2 mg/l时，苗就表现得不太正常，苗细弱、发黄，还伴有半透明的玻璃苗出现。（2）只加 6 -BA，对芽的分化增殖有显著的影响，当 6 -BA浓度为0.5 mg/l 时，几乎每个芽基部的腋芽都萌动，且有不定芽分化出来形成丛状，基部愈伤组织也很少。当 6 -BA浓度在 1 mg/l以上后，芽增殖虽然不减，但芽的伸长明显受阻。（3）将IAA和 6 -BA 配合起来使用时，芽的分化比只加IAA有所增加，但并没有只加 6 -BA的好，而芽基部的愈伤组织却增大很多，且完全不分化，有些小芽有被愈伤组织“包埋”起来的现象，故我们认为，芽的增殖以单加 6 -BA0.5—1 mg/l最为合适。

从表 2 中可看出：源于实生苗的芽增殖分化情况和对IAA、 6 -BA 的反应类似于源于成年树的芽，但其增殖周期却要短一倍的时间，这也说明幼态的芽分化时，启动比成年态的芽要快得多。

一般说来，源于成年树的芽接种40天后，源于实生苗的芽20天后，大部分芽都长成1.5厘米以上的成丛状的芽条。这一部分芽条到此时便可切下转到生根培养基上；而就整体说来，芽的生长是参差不齐的，有一部分芽还没有长到 1.5厘米，有的芽还才刚刚萌

表3 不同芽条和IBA浓度下的生根比较（接种20天后观察）

Table 3 Comparisons of rooting in different shoots and IBA concertration (20 days after inoculation)

芽条来源 origin of shoots	IBA浓度 IBA conc. (mg/l)	IBA处理方式 IBA treating methods	供试芽条数 tested no. of shoots	出根芽条数 rooting no. of shoots	出根时间 rooting time(day)	出根率 rooting rate 1 %	平均根数 Average of roots (no./plant)	平均根长 Average length of roots(cm)	愈伤组织情况 state of callus
源于成年态茎尖	100	沾(soak)	50	20	10	40	2.0	0.4	++ *
的芽条	50	沾(soak)	50	18	11	36	1.8	0.9	+
origin of adult	20	沾(soak)	50	26	12	52	2.9	1.4	+
plant of	1.0	加入培养基中	50	0	—	—	—	—	+++
culture shoots	0.5	in solid	50	2	12	4	1.3	0.8	++
	0.2	medium	50	27	13	54	1.3	1.1	+
	0.05		50	40	18	80	2.1	1.1	+
源于实生苗	100	沾(soak)	50	50	10.5	100	3	0.9	−
的芽条	50	沾(soak)	50	50	14	100	2	0.1	+
origin of seedling	20	沾(soak)	50	50	11	100	4	1.3	−
of culture shoots	1.0	加入培养基中	50	50	12	100	6	1.4	−
	0.5	in solid	50	50	12	100	9	1.1	+
	0.2	medium	50	50	11	100	4	2.0	−

* + 小、少；++较多、较大；+++多而大；－无

+shows: small and little; ++ shows: more and bigger; +++ shous: many and biggest; − shows: nothing(not anythng)

动，对这一部分芽我们仍将它继续分割成芽，继代到新鲜的芽增殖培养基中，过40天和20天后，又分别长出新一代的芽条。然后再重复以上过程，循环往复。这样一个快速微型繁殖山楂苗的无性系便建立起来了。

3.诱导芽条生根　1.5厘米以上的芽条置于大量元素减半的MS培养基上，蔗糖浓度降为2％。我们作了IBA、IAA、NAA等不同激素和不同浓度的试验，其中IBA效果要好些，将实验数据列成表3。从表3所列结果中可以看出，源于成年树茎尖的芽条比源于实生苗的芽条难于再分化出根。源于成年树的芽条在低浓度的IBA时虽然最高生根率可到80％，但这个生根率在多次的重复实验中却不稳定，一般是50—80％之间。而实生苗的芽条则无论哪种浓度处理，生根率几乎都是100％；从根系生长情况（根数、根长、愈伤组织等）来看也是这样，前者平均根数少，芽条切口处时有愈伤组织。若愈伤组织较大，根和芽条的输导组织不相通，以致形成的根无用。而后者根系生长很正常，芽条的枝叶生长也相应协调些。

讨　论

成年云南山楂茎尖的离体培养虽较之实生苗的难度要大些，但就其繁殖系数、周期和可以诱导其生根的情况来看，也为我们揭示了进一步完善该技术的前景。我们认为，要使云南山楂成年树茎尖的无性系快速繁殖进入实用阶段，关键的问题在于如何进一步提高其生根率和生根质量。另外，试管苗移栽下地的工作也应予以重视。

参考文献

1　王玉英，高欣一，李寿彭等．植物杂志　1982；（2）：50

2　王玉英，王伏雄，高欣一．中国农业科学　1983；（1）：24—28

3　W.巴尔茨，E.赖因哈德，M.H.岑克主编；夏镇澳等译．植物组织培养及其在生物技术上的应用．北京：科学出版社，1983：266—267

4　谢玉如，戴伦凯，郭梦如等．植物学报　1981；23（5）：383—388

CLONAL PROPAGATION OF CRATAEGUS SCABRIFOLIA SHOOT APICES IN VITRO

Hu Hong, Huang Shizhou, Duan Jinyu

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming)

Abstract Shoot apices from seeding and adult plants of *C. scabrifolia* were used. In adult plants, the axillary buds were better than the terminal buds when used us explants to induce clustered shoots. All the buds either from seedings or adult plants can be cultured on MS basal medium supplemented with IAA 0.1—0.5 mg/l and 6-BA 1—2 mg/l to induce clustered shoots. MS basal medium with the addition of 0.5—1.0 mg/l 6-BA was used, when subculture. In 40 days, the number of shoots multiples 4—6 times. Shoots 1.5—2 cm long can be cut down and cultured in MS/2 basal medium with IAA or IBA 0.05—1 mg/l to induce roots. In 20 days, the percentage of rooting shoots reaches about 80% for shoots derived from adult plants and above 98% from seedlings.

Key words *Crataegus scabrifolia*; Juvenile form; Adult form; Clone rapid propagation